

Infección por *Legionella* en España: Análisis de las cepas humanas y ambientales aisladas entre 1980 y 1999

Carmen Pelaz¹
Cecilia Martín
Bourgon²

¹Laboratorio de Legionella, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología
²Secretaría Técnica, Instituto de Salud Carlos III Madrid

Resumen

En el laboratorio de *Legionella* del Centro Nacional de Microbiología se han identificado por métodos microbiológicos estándar 375 cepas de origen humano y 2.836 cepas de origen ambiental, procedentes de todas las Comunidades Autónomas.

La identificación de estas cepas de *Legionella* en especies y serogrupos se ha analizado junto con la información epidemiológica o ambiental que acompaña a cada cepa en el momento de su recepción en el laboratorio, clasificándolas en función de su origen comunitario u hospitalario y de su asociación con brotes o casos esporádicos. El análisis de las cepas de origen humano demuestra que *Legionella pneumophila* serogrupo 1 aparece como el principal patógeno en infección comunitaria y en brotes, tanto comunitarios como hospitalarios, mientras que otros serogrupos de *L pneumophila* aparecen con mayor frecuencia en infecciones hospitalarias esporádicas. Otras especies de la familia aparecen en casos esporádicos en ambos ámbitos, pero en muy pequeña proporción.

El análisis de las cepas de origen ambiental demuestra que la presencia de *L pneumophila* serogrupo 1 es similar a la de otros serogrupos, tanto en las instalaciones comunitarias, como en las hospitalarias. Sin embargo, *L pneumophila* serogrupo 1 es más frecuente en instalaciones comunitarias asociadas a casos y a brotes, y en instalaciones hospitalarias asociadas a brotes.

Palabras clave: *Legionella*. Brotes. Casos esporádicos. Infección comunitaria. Infección hospitalaria.

Summary

In the *Legionella* Laboratory of the Centro Nacional de Microbiología 375 human and 2,836 environmental *Legionella* strains, recovered from all Spanish Autonomous Communities, have been identified by standard microbiological methods.

The final analysis was performed using microbiological, epidemiological and environmental information, and the strains were classified following their community or hospital origin, and according to their association to outbreaks or sporadic cases.

The analysis of the strains of human origin showed that *Legionella pneumophila* serogroup 1 appeared as the main pathogen in community infection and outbreaks,

other serogroups were more frequent in sporadic hospital infections and a small number of other *Legionella* sp. were found in sporadic cases in both situations (hospital and community).

The environmental strains analysis indicated that *L pneumophila* serogroup 1 was as frequent as other serogroups in both community and hospital premises, although this serogroup was isolated more frequently in community and hospital premises associated to outbreaks and in community installations related to sporadic cases.

Key words: *Legionella*. Outbreaks. Sporadic cases. Community infection. Hospital infection.

Introducción

El conocimiento de la legionelosis, y de la bacteria que la causa, comenzó en 1976 con el estudio del brote que afectó a 182 participantes de una convención de la Legión Americana en un hotel de Filadelfia^{1,2}, y representó un importante acontecimiento en el mundo de la microbiología. Hoy podríamos considerar que es una enfermedad que ha surgido con el progreso del hombre ya que se la relaciona fundamentalmente con sistemas de refrigeración y grandes instalaciones de agua.

La legionelosis es una enfermedad de baja incidencia, pero adquiere importancia sanitaria en nuestro país, debido fundamentalmente a los siguientes aspectos: la frecuente presentación en forma de brotes, en ocasiones con un elevado número de afectados, asociados a edificios u otras instalaciones^{3,4,5}; la producción de casos de enfermedad nosocomial grave en pacientes inmunocomprometidos o con enfermedades de base^{6,7}; la importante tasa de mortalidad cuando no se instaura un tratamiento adecuado y temprano^{8,9}, y la frecuente notificación de casos de legionelosis en viajeros, asociados a estancias en instalaciones hoteleras^{10,11}.

La legionelosis está considerada una enfermedad bacteriana de origen ambiental, por lo que cuando

Correspondencia:
Carmen Pelaz
Laboratorio de Legionella
Servicio de Bacteriología
Centro nacional
de Microbiología
Instituto de salud Carlos III
Majadahonda,
28220 Madrid
E mail: cpelaz@isciii.es

se aborda su estudio, no sólo tiene interés el paciente sino también el entorno ambiental del enfermo, como origen de la enfermedad. Por ello, se considera importante analizar los resultados derivados del estudio microbiológico de las cepas de origen humano que causaron infección, así como de las cepas de origen ambiental procedentes de las instalaciones/edificios generalmente asociadas a infección.

En este trabajo se presentan los resultados del Laboratorio de *Legionella* del Centro Nacional de Microbiología, referidos a la identificación tanto de las cepas aisladas en el propio laboratorio a partir del procesamiento de muestras clínicas y/o de muestras ambientales procedentes de instalaciones de edificios, bien asociados a infección humana, bien estudiados por motivos de vigilancia, como de las cepas remitidas por otros laboratorios para su identificación ó confirmación. Ambos tipos de muestras son enviadas por los laboratorios de microbiología o medicina preventiva de algunos hospitales, fundamentalmente de la red pública, ó por los laboratorios de salud pública de las Comunidades Autónomas o laboratorios municipales. El envío de estas muestras/cepas no obedece a ninguna reglamentación, sino que se realiza voluntariamente.

El ánimo del presente trabajo es conocer los tipos de *Legionella* que causan infección, la diferencia entre las infecciones adquiridas en la comunidad y las adquiridas en el hospital, así como los tipos de *Legionella* presentes en el ambiente y la diferencia de éstos entre los edificios asociados a casos o brotes y los no asociados, analizando la significación estadística de estas diferencias.

Descripción de la colección de cepas de *Legionella* estudiadas.

Desde 1980, año en que se crea este laboratorio, se han ido estudiando cepas de *Legionella* a lo largo de los años, de manera que en Diciembre de 1999 se cuenta con una colección que consta de 3.211 cepas, de las que 375 son de origen humano y 2.836 de origen ambiental (Figura 1). Estas cepas proceden de todas las Comunidades Autónomas y de casi todas las provincias españolas, variando el número de ellas de una Comunidad y otra (Figura 2).

L pneumophila es la especie más frecuente entre las cepas humanas y ambientales, existiendo además alguna cepa representante de 5 especies diferentes entre las cepas humanas y de 13 especies entre las ambientales (Tabla 1). Los 14 serogrupos (SGs) descritos de *L pneumophila* se ven representados entre las cepas ambientales, y todos excepto

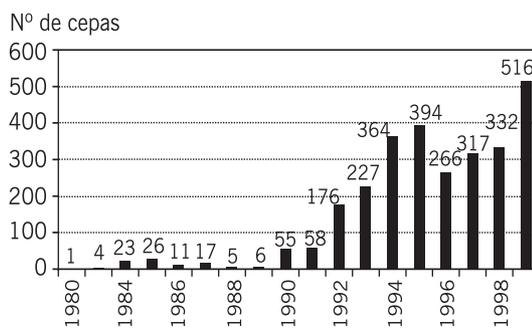


Figura 1. Distribución temporal de cepas de *Legionella* identificadas en CNM (1980-1999) Arriba: Cepas ambientales Abajo: Cepas humanas

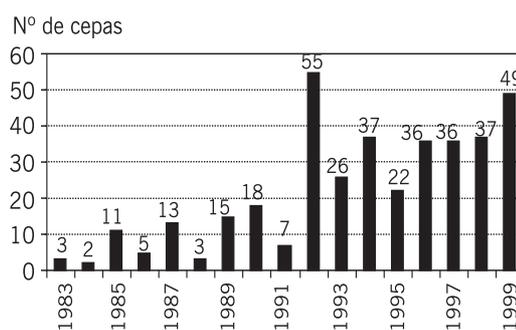
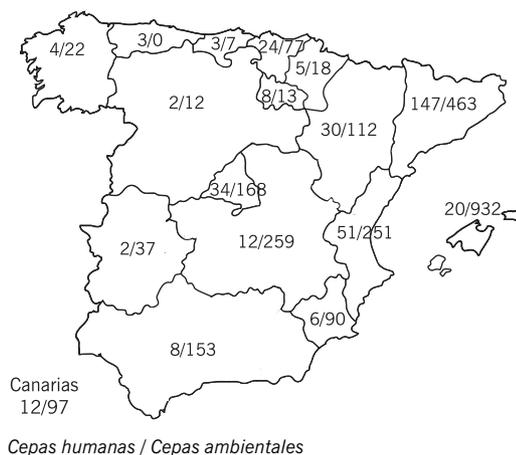


Figura 2. Distribución de las cepas de *Legionella* humanas y ambientales según su origen por Comunidades Autónomas



SG 7, SG 9, SG 13 y 14 entre las cepas humanas (Tabla 2).

L pneumophila serogrupo (SG) 1 es claramente mayoritario entre las cepas de origen humano, sin embargo entre las de origen ambiental es tan frecuente como otros SGs, cuando se compara, en ambos grupos de cepas, la presencia de SG 1 frente a la de otros SGs de *L pneumophila* u otras especies (Tabla 3).

Tabla 1.
Distribución de cepas
de *Legionella* humanas
y ambientales
en especies

Especie	Cepas humanas (%)	Cepas ambientales (%)
<i>L pneumophila</i>	362 (96,5)	2.644 (93,2)
<i>L longbeachae</i>	8 (2,1)	10 (0,35)
<i>L dumofii</i>	2 (0,5)	3 (0,1)
<i>L bozemanii</i>	1 (0,26)	50 (1,7)
<i>L.jordanis</i>	1 (0,26)	-
<i>L micdadei</i>	1 (0,26)	11 (0,38)
<i>L gormanii</i>	-	1 (0,03)
<i>L erytra</i>	-	4 (0,14)
<i>L londiniensis</i>	-	3 (0,1)
<i>L nautarum</i>	-	3 (0,1)
<i>L rubrilucens</i>	-	10 (0,35)
<i>L spiritensis</i>	-	3 (0,1)
<i>L wadsworthi</i>	-	4 (0,14)
<i>L turin</i>	-	2 (0,07)
<i>Lsp</i>	-	88 (3,1)
Total	375	2.836

Tabla 2.
Distribución de cepas
de *L pneumophila*
humanas y ambientales
en serogrupos

Serogrupo	Cepas humanas (%)	Cepas ambientales (%)
1	305 (84,2%)	1329 (50,3%)
2	1	14
3	12	125
4	1	25
5	2	81
6	10	245
7	-	29
8	3	194
9	1	83
10	5	118
11	-	3
12	2	9
13	-	1
14	-	44
2,3	-	23
3,6	2	58
2,3,6,9,12	-	22
4,5,8,10	17	213
Otras combinaciones	1	24
Total	362	2640

Tabla 3.
Distribución de cepas
humanas y ambientales
en *L pneumophila*
serogrupo 1 y otras
especies y serogrupos

Especie y SG	Cepas humanas (%)	Cepas ambientales (%)
<i>L pneumophila</i> SG 1	305 (81,3)	1.329 (46,9)
<i>L pneumophila</i> otros SGs	57 (15,2)	1.311 (46,2)
Otras especies	13 (3,4)	192 (6,7)
Total	375	2.832

Distribución de las cepas humanas según el ámbito en que se adquiere la infección y según su relación con brotes de legionelosis o con casos esporádicos

La información epidemiológica que acompañó a las cepas de origen humano permitió considerar que 151 cepas procedían de pacientes con legionelosis comunitaria y 93 de pacientes con infección hospitalaria. *L pneumophila* SG 1 fue mayoritario tanto entre las cepas de pacientes con infección comunitaria (88,7%), como entre las procedentes de infección hospitalaria (65,6%), frente a otros SGs, 7,9% en la comunidad y 31,2% en el hospital. Otras especies fueron identificadas en proporción similar en ambos grupos de cepas, 3,3% en infección comunitaria y 3,2% en infección hospitalaria (Tabla 4).

Del total de cepas humanas estudiadas, 58 procedían de pacientes relacionados con 33 brotes comunitarios y 51 de pacientes relacionados con 14 brotes hospitalarios. En la comunidad la totalidad de las cepas asociadas a brote pertenecieron a *L pneumophila* SG 1, mientras que en el hospital el 80,4% fueron de SG 1 y el 19,6% de otros SGs, no identificándose otras especies entre las cepas asociadas a brote en ambos ámbitos (Tabla 4). Además contamos con 31 cepas procedentes de casos de legionelosis esporádicos. Las 15 cepas de casos esporádicos comunitarios se identificaron como: *L pneumophila* SG 1 el 43,7%, otros SGs el 25% y otras especies el 31,2%, y las 16 cepas de casos esporádicos hospitalarios como: SG 1 el 13,3%, otros SGs el 66,6% y otras especies el 20% (Tabla 4).

Distribución de las cepas ambientales según su procedencia y según su relación con casos/brotes de legionelosis.

La información ambiental mostró que 1.832 cepas procedían de edificios/instalaciones comunitarias y 841 procedían de instalaciones hospitalarias (Tabla 5). *L pneumophila* SG 1 fue identificado con una frecuencia similar a la de otros SGs entre las cepas procedentes de instalaciones comunitarias (48,2% y 45,8% respectivamente), así como las procedentes de instalaciones hospitalarias (46% y 49% respectivamente).

Se pudieron considerar tres grupos de cepas, procedentes de edificios no asociados con casos y de edificios asociados con casos, dentro de los cuales pudimos diferenciar algunos edificios asociados con brote, tanto en la comunidad como en el hospital. En la comunidad, *L pneumophila* SG 1 es más frecuente en edificios asociados a casos (59,9%) y a brote (64,2%), sin embargo en edificios no asociados con casos fueron más frecuentes otros SGs (50,1%). En el hospital, *L pneumophila* SG 1 fue el más frecuente cuando el hospital estaba asociado a brotes (58,7%) y otros SGs en hospitales asociados o no asociados con casos (53,8% y 49,8% respectivamente) (Tabla 5).

	Total	Hospital Brote N=14	Esporádico N=15	Total	Comunidad Brote N=33	Esporádico N=16
<i>L pneumophila</i> SG 1	61 (65,6)	41 (80,4)	2 (13,3)	134 (88,7)	58 (100)	7 (43,7)
Otros SGs:	29 (31,2)	10 (19,6)	10 (66,6)	12 (7,9)	-	4 (25)
SG 2	1					
SG 3	4		3	6		4
SG 5	2	2				
SG 6	5		5	1		
SG 8	2	1				
SG 9	1					
SG 10	4	3				
SG 12				1		
SG 4,5,8,10	10	4	2	3		
SG 3,5				1		
Otras especies:	3 (3,2)	-	3 (20)	5 (3,3)	-	5 (31,2)
<i>L longbeachae</i>	2		2	4		4
<i>L jordanis</i>	1		1			
<i>L micdadei</i>				1		1
Total cepas	93	51	15	151	58	16

N= número de brotes o casos esporádicos.
(% de cepas sobre el total de cepas de cada columna)

Tabla 4.
Identificación
de las cepas humanas
de *Legionella*
relacionadas
con infección hospitalaria
y comunitaria

	Total cepas	Cepas de edificios no asociados a casos	Cepas de edificios asociados a casos	Cepas de edificios asociados a brote
Comunitarios				
L pn 1	883 (48,2)	134 (41,5)	451 (59,9)	273 (64,2)
Lpn otros SGs	839 (45,8)	162 (50,1)	269 (35,7)	142 (33,4)
Otras sp	110 (6)	27 (8,3)	33 (4,4)	10 (2,3)
TOTAL	1.832	323	753	425
Hospitalarios				
L pn 1	387 (46)	26 (33,3)	318 (45,8)	277 (58,7)
Lpn otros SGs	412 (49)	42 (53,8)	346 (49,8)	171 (36,2)
Otras sp	42 (5)	10 (12,8)	30 (4,3)	24 (5,1)
TOTAL	841	78	694	472

() % sobre el total de cepas de cada columna

Tabla 5.
Distribución de las cepas
ambientales procedentes
de instalaciones
o edificios comunitarios
y hospitalarios, según
su asociación con casos/
brotes de legionelosis
o no

Discusión

El número de cepas de *Legionella* estudiadas ha aumentado ininterrumpidamente a lo largo de los años (Figura 1), encontrando un gran incremento en 1992, en parte debido a la solicitud de cepas procedentes de casos de legionelosis en viajeros relacionados con estancias en España y notificados al EWGLI (European Working Group on *Legionella* Infections). A partir de este año se detecta un incremento en el número de cepas estudiadas, así la media de cepas humanas estudiadas/año pasó de 7,7 a 37,2 y la media de cepas ambientales/año de 20,8 a 324. Este incremento podría ser un reflejo de una mayor utilización

del cultivo como método diagnóstico en los laboratorios de microbiología hospitalarios, así como de una mayor conciencia entre los técnicos en salud pública de la importancia de estudiar el medio ambiente que rodea al enfermo, como causa de la infección.

El gran número de cepas humanas estudiadas, procedentes de todas las Comunidades Autónomas nos hace pensar que esta colección podría ser representativa de las cepas de *Legionella* que están produciendo infección en España, aún sabiendo que el cultivo no es el único método utilizado en el diagnóstico de la enfermedad, y que no todas las cepas de *Legionella* aisladas en nuestro país han sido identifi-

cidas en este laboratorio. Lo mismo ocurre con las cepas de origen ambiental, el gran número estudiado, procedentes también de todas las Comunidades Autónomas, nos hace considerar esta colección de cepas como representativa de las legionelas que albergan nuestras instalaciones.

La identificación de las cepas humanas y ambientales en especies y SGs demuestra la importancia de *L pneumophila* SG 1 como causa de enfermedad, ya que se encontró una diferencia estadísticamente significativa cuando se comparó la presencia de SG 1 y la de otros SGs entre las cepas humanas y las ambientales ($p < 0,0000$) (Tabla 3).

El análisis de las cepas humanas también demuestra la importancia de *L pneumophila* SG 1, ya que se encontró una diferencia estadísticamente significativa cuando se comparó su presencia con la de otros SGs entre las cepas humanas procedentes de infección comunitaria y las procedentes de infección hospitalaria ($p < 0,0000$), así como entre las cepas humanas procedentes de brotes comunitarios y de brotes hospitalarios ($p = 0,0003$, aplicando el test de Fisher). Los 33 brotes comunitarios estudiados y 10 de los 14 hospitalarios se debieron a *L pneumophila* SG 1 (Tabla 4). Por ello se podría considerar, al igual que otros autores, que *L pneumophila* SG 1 es el patógeno principal de la familia^{12,13}, especialmente cuando aparece en forma de brote epidémico tanto en la comunidad como en el hospital, y cuando la infección es adquirida en la comunidad.

Cuando se analizaron las cepas humanas procedentes de casos esporádicos comparando la presencia de SG 1 con la de otros SGs, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de otros SGs cuando la adquisición de la infección fue en el hospital ($p = 0,0360$, aplicando el test de Fisher), aunque el número de cepas contrastadas en este caso fue pequeño (Tabla 4). Los 4 brotes hospitalarios causados por otros SGs se debieron a SG 5, SG 8, SG 10 y SG 4,5,8,10.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que cualquier SG puede llegar a ser patógeno en los pacientes hospitalizados^{6,7,13,14}, mientras que en la comunidad, donde el estado de salud de las personas expuestas es generalmente mejor, el patógeno principal es *L pneumophila* SG 1. Debido a que la mayoría de las pruebas diagnósticas han sido diseñadas y evaluadas para *L pneumophila* SG 1, las legionelosis debidas a otras especies o SGs podrían estar infradiagnosticadas, resaltando en estas situaciones el importante papel que juega el cultivo del microorganismo como método diagnóstico. Además, el cultivo de los pacientes permite la búsqueda de las su-

puestas fuentes de infección, hecho que es especialmente importante en el estudio de brotes por *Legionella*, para prevenir la aparición de nuevos casos, aunque también se deban realizar esfuerzos en mejorar su sensibilidad y especificidad.

El análisis de las cepas de origen ambiental demuestra que la presencia de *L pneumophila* SG 1 fué similar a la de otros SGs, tanto en el total de cepas estudiadas (Tabla 3), como entre las cepas procedentes de instalaciones comunitarias o de instalaciones hospitalarias (Tabla 5). Entre las cepas procedentes de instalaciones comunitarias *L pneumophila* SG 1 es más frecuente, tanto en edificios asociados a casos como en los asociados a brote, frente a los edificios no asociados a casos ($p < 0,0000$ en ambas comparaciones), sin embargo, no ocurre lo mismo en el hospital, donde la presencia de SG 1 es significativamente mayor entre las cepas de hospitales asociados a brote ($p < 0,000$), pero no lo es entre cepas de hospitales asociados a casos ($p = 0,1280$).

En el presente estudio se pone de manifiesto el hecho de que existiendo una variedad de especies y SG de *Legionella* en las instalaciones estudiadas, no todas han sido capaces de producir enfermedad. La transmisión de la bacteria al hombre se produce fundamentalmente por la inhalación de aerosoles conteniendo la bacteria y la adquisición de la enfermedad está relacionada con la susceptibilidad de las personas expuestas y con la intensidad de la exposición, determinada por la cantidad de bacteria y la duración de la exposición. Sin embargo, otros factores también deben de jugar un papel importante, como determinados factores de virulencia presentes en *L pneumophila* SG 1, o una mejor adaptación de este SG al medio ambiente y al proceso de transmisión de la bacteria¹⁵⁻¹⁷.

Agradecimientos

Deseamos agradecer la inestimable ayuda de Ana Ibáñez por su apoyo técnico. Así mismo queremos dejar constancia de nuestro aprecio por la colaboración de todos los compañeros que envían muestras/cepas para aislamiento, identificación, confirmación o tipificación.

Bibliografía

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PH and the Field

- investigation team. Legionnaires' disease. Description of an epidemic of pneumonia. *New Engl J Med* 1977; 297:1189-96.
2. Mc Dade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowle WR. and the laboratory investigation team. Legionnaires' disease. Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory diseases. *New Engl J Med* 1977;297:1197-203.
 3. Boletín Microbiológico Semanal. Brote epidémico de neumonía por *Legionella* en Almuñecar. *Bol Microbiol Sem* 1991;48:2-4.
 4. Pelaz C y Martín-Bourgón C. Caracterización de aislados clínicos y ambientales de *Legionella* asociados a brotes y estudio de las fuentes de infección. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1993;11:359-65.
 5. Boletín Epidemiológico Semanal. Informe del Brote de neumonía por *Legionella* de Alcalá de Henares. Madrid, abril 1997 (I y II). *Bol Epidemiol Sem* 1997; 14 y 15(5):133-52.
 6. Biurrum A, Caballero L, Pelaz C, León E and Gago A. Treatment of a *Legionella pneumophila* colonized water distribution system using Copper-Silver ionization and continuous chlorination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:426-8.
 7. Campins M, Ferrer A, Callís L, Pelaz C, Cortés PJ, Pinart N and Vaqué J. Nosocomial Legionnaire's disease in a children's hospital. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:228-34.
 8. Heath CH, Grove DI and Looke DFM. Delay in appropriate therapy of *Legionella* pneumonia associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:286-90.
 9. Cano R, Mangas I, Martín C y de Mateo S. Brotes notificados de legionelosis en España. Años 189-1998. *Bol Epidemiol Sem* 1999;7:69-71.
 10. Galmés A and Martínez-Navarro J. Travel associated legionellosis among european tourist in Spain. *Eurosurveillance* 1997;2:43-46.
 11. Joseph C and Lane C. *Legionnaires' disease in Europe-1996*. 12th meeting EWGLI. Lisboa, Portugal 1997.
 12. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW and Kuritsky JN. *Legionella* pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J Infect Dis* 1984; 149:819.
 13. Marston BJ, Lipman HB and Breiman RF. Surveillance for legionnaires' disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch Intern Med* 1994;154:2417-22.
 14. Joseph CA, Watson JM, Harrison TG and Bartlett CLR. Nosocomial legionnaires' disease in England and Wales, 1980-92. *Epidemiol Infect* 1994;112:329-45.
 15. Dournon E, Bibb WF, Rajagopalan P, Desplaces N and McKinney RM. Monoclonal antibody reactivity as a virulence marker for *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. *J infect Dis* 1988;175:496-501.
 16. Steinert M, Emödy L, Amman R and Hacker J. Resuscitation of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* Philadelphia JR32 by *Acanthamoeba castellanii*. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:2047-53.
 17. Abu Kwaik Y, Gao LY, Stone BJ, Venkataraman C and Harb OS. Invasion of protozoa by *Legionella pneumophila* and its role in bacterial ecology and pathogenesis. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:3127-33.